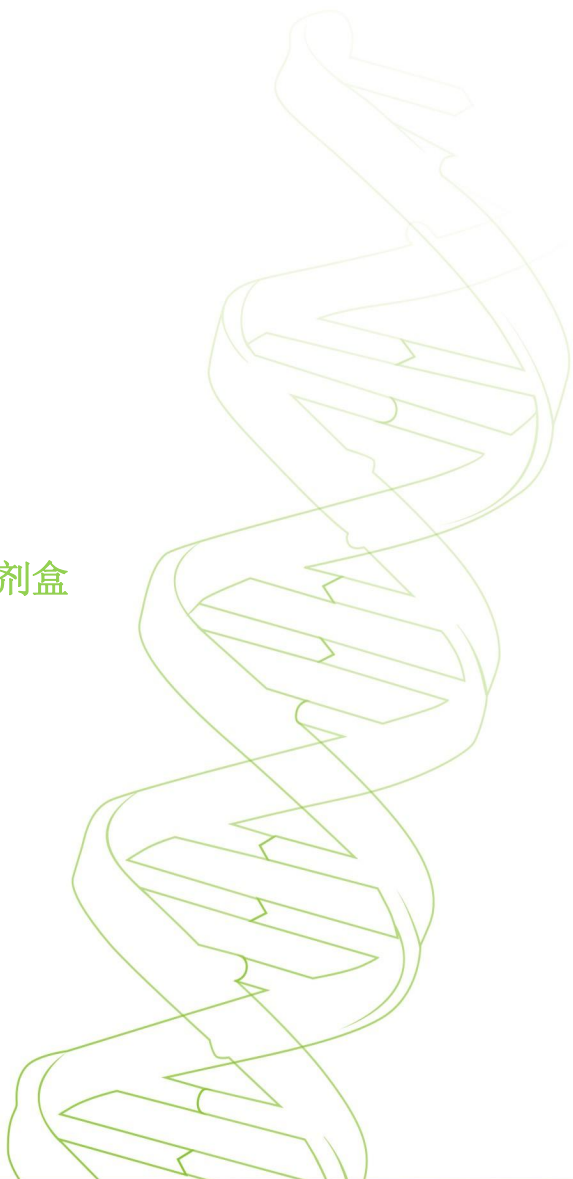


# Imagene<sup>®</sup>

## Ni-TED 6FF 蛋白纯化试剂盒



**CODONX**  
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY  
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

## Ni-TED 6FF 蛋白纯化试剂盒

目录号 IM-006K06

### 使用说明书

网站: [www.codonx.com](http://www.codonx.com)

咨询电话: 010-56315162

技术支持 QQ: 3090544158

1/产品介绍

2/试剂盒组成、储存、稳定性

3/特征参数

4/缓冲液准备

5/操作步骤

6/在位清洗

7/常见问题及解决方案

# Ni-TED 6FF 蛋白纯化试剂盒

目录号: **IM-006K06**

目录编号	包装单位
IM-006K06	10×1mL

## 1/产品介绍

Ni-TED是一种将整合了镍离子的TED配基键结合在琼脂糖微球上的亲和层析分离介质。由于TED对镍离子超强的整合能力,使亲和Ni-TED能够耐受高浓度的整合剂EDTA和还原剂DTT,适用于含有EDTA或DTT等成分的组氨酸标记(His-Tag)的基因工程蛋白质以及能够与Ni<sup>2+</sup>相互作用的生物分子的分离纯化。

## 2/试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	储存	IM-006K06
Ni-TED 6FF 预装重力柱	2-8°C	1 mL×10
Ni-Elution Buffer	2-8°C	500 mL
Ni-Binding/Wash Buffer	2-8°C	500 mL

本试剂盒常温运输, 2-8°C储存在 20%乙醇中, 不可冷冻。

## 3/特征参数

基质	6%高度交联的琼脂糖
平均粒径	90 μm (45-165 μm)
结合载量	10~30 mg (His 标签蛋白) / mL (介质)
pH 稳定性	2~14 (短时间, 在位清洗), 4~13 (长时间), 4~10 (工作)

化学稳定性	2 小时内耐受 500mM 咪唑, 100mM EDTA; 24 小时内耐受 10mM EDTA, 5 mM DTT, 1M 氢氧化钠, 6 M 盐酸胍, 8M 尿素
兼容性	所有在 Ni-NTA / IDA 中正常使用的溶液
流速	≤600 cm / h
推荐运行流速	150 cm/h
操作压力	≤ 0.3 MPa

**特点:**

- (1) 性能稳定, 耐受 EDTA、DTT 和 NaOH, 无需预处理即可上样。
- (2) 较高动态吸附容量, 可对接常用层析设备。
- (3) 无需脱 Ni, 直接进行 NaOH 清洗, 大大缩短了清洗周期。

**4/缓冲液准备**

结合缓冲液: 20 mM PB, 0.5 M NaCl, pH 7.4

洗杂缓冲液: 20 mM PB, 0.5 M NaCl, 1~30 mM 咪唑, pH 7.4

洗脱缓冲液: 20 mM PB, 0.5 M NaCl, 500 mM 咪唑, pH 7.4

**注意:**

1. 配制缓冲液所需要的水和化学试剂必须是高纯度的, 并且使用前要过 0.45 μm 的微孔滤膜。不建议样品和结合缓冲液中添加咪唑, 洗杂缓冲液中的咪唑最优浓度取决于蛋白样品, 通常可以选择 10~20 mM 的咪唑浓度。
2. 缓冲液中 NaCl 是为了抑制树脂的离子交换作用。
3. 一般情况下, 洗脱液中的咪唑浓度可洗脱下大多数的目的蛋白, 也可适当提高咪唑浓度, 增加孵育时间, 使洗脱效果更好。
4. 如果是包涵体纯化, 在平衡液、洗杂液、洗脱液中添加 8M 尿素或 6M 盐酸胍, 效果会更好。

**5/操作步骤 (以1 mL 柱装树脂为例)**

1. 样品的准备: 将宿主细胞碎片通过离心等方式去除, 然后过 0.45 μm 的微孔滤膜, 用结合缓冲液进行适当稀释。为了获得最大的载量, 不要在蛋白样品溶液中添加咪唑。
2. 水洗: 用 5~10 倍柱体积纯水以 50~150 cm/h 清洗树脂, 去除乙醇。
3. 平衡: 用 5~10 倍柱体积结合缓冲液以 150~600 cm/h 平衡介质, 保证介质中的溶液的组分和 pH 与样本一致。
4. 上样: 样品经过离心、过滤 (0.45 μm) 后以低流速进行上样, 建议流速 150 cm/h。

**注意：蛋白的结合能力随着裂解物类型、目标蛋白性质、流速、pH 变化而变化，流速越低，结合效果越好。纯化时温度比较低时可以减小流速，防止样品和缓冲液黏度变大导致柱压太高。**

5. 洗杂：用 10~20 倍柱体积洗杂液以 150 cm/h 洗杂，清洗非特异吸附的杂蛋白，并收集洗杂液用于后续分析。

6. 洗脱：用 5~10 倍柱体积洗脱液以低流速进行洗脱，并收集洗脱液。

**注意：对于洗脱，除了选用咪唑，还有其他方式，例如降低 pH 值（2.5~5.0）。本产品每次使用后不需要用镍离子再生，但是使用低 pH 时需要用镍离子再生。**

7. 水洗：用 5~10 倍柱体积纯化水以 0.5 mL / min 清洗树脂介质，去除介质中洗脱液。

8. 保存：用 5~10 倍柱体积 20%乙醇以 0.5 mL / min 清洗清洗介质，在 4-8°C 保存。

**注意：4~8°C 保存在 20%乙醇中可以防止微生物的生长。**

9. 再生：用 2 倍柱体积 1 mol/l NaOH 清洗树脂介质，接着用 10~20 倍柱体积去离子水冲洗。若有失活蛋白质或脂类物质在再生时洗不掉，可用在位清洗（CIP）除去。

## 6/在位清洗

1. 对于强结合蛋白质或脂类物质，可采用以下流程进行在位清洗：2 倍柱体积的 1 mol/L NaOH，2 倍柱体积的 4 mol/L 尿素或 3 mol/L 盐酸胍，2 倍柱体积的 70%乙醇或 30%异丙醇，5~10 倍柱体积去离子水，5~10 倍柱体积的平衡缓冲液。

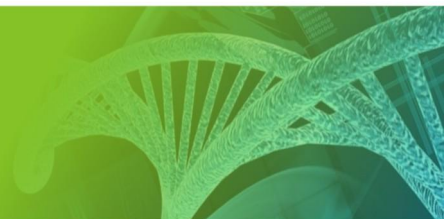
2. 建议树脂每使用 5~10 次后进行一次清洗，具体清洗频率需根据纯化的初始样品的洁净度进行调整。

## 7/常见问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
纯化时目标物不与介质结合或结合量较低	上样速度过快	降低上样流速
	蛋白或脂类在介质中聚集影响结合新的介质	及时有效地清洗介质或更换
	表达条件过于剧烈，His 标签被包裹，不能与介质结合	建议做一个空载体作为表达和纯化的对照，确定表达条件是否合适
	初始样品中没有组氨酸标签蛋白	通过基因序列或 His 标签抗体核实
	目标蛋白出现在流穿液中	目标蛋白没有成功表达或样品和平衡液中 pH 和组分不正确

洗脱时没有收集到目标物或只收集到少量目标物	洗脱条件不合适	加大洗脱液中咪唑浓度
	洗脱时间不够	降低流速, 延长洗脱液和 Ni 柱的孵育时间
	洗脱体积小	加大洗脱体积
	目标物在洗脱液条件下出现聚集沉淀	检测目标物在洗脱液条件 (pH 和盐浓度) 下的溶解度和稳定性。可以尝试在洗脱液中加入一些添加剂: 如 0.2% Triton X-100 或 0.5% Tween 20
洗脱出的组氨酸标签蛋白不纯	样品没有经过前处理	样品上柱前必须要经过离心或过滤
	在样品和 binding buffer 混合液中, 咪唑浓度过低	在样品和 binding buffer 混合液中用更高浓度的咪唑浓度。浓度 20~40mM 是推荐浓度, 但是更高的浓度可能也是可以的。
	洗涤不够	重复洗涤步骤以获得最佳纯度。
	杂质与介质出现非特异性吸附	适当选择添加剂降低非特异性吸附, 如 0.5% Triton X-100、1.0% Tween 20 或 50% 甘油。
	标签蛋白可能降解	加入蛋白酶抑制剂 (注意 EDTA 浓度) 并在 4°C 进行操作。





---

## **CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd**

Yizhuang Biomedical Park

Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China

Tel: 010-56315162 [www.codonx.com](http://www.codonx.com)